Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Wachsmuth

L o k a l e B l u t s t i l l u n g d u r c h K o l l o i d e, i n s b e s o n d e r e d u r c h M a k r o d e x.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Marianne M e h l e r
aus Würzburg

- Würzburg 1954 -

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549822_0031

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. W. Wachsmuth

L o k a l e B l u t s t i l l u n g d u r c h K o l l o i d e, i n s b e s o n d e r e d u r c h M a k r o d e x.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Marianne M e h l e r

aus Würzburg

- Würzburg 1954 -

Referent: Priv.Dozent Dr. med. Fr. H o l l e.

Korreferent: Professor Dr. med. W. W a c h s m u t h.

Tag der mündl. Prüfung:

20. Okt. 1954

R.UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Julius - Maximilians - Universität Würzburg.

Inhaltsangabe

Künstliche Haemostase, hier vor allem bei parenchymatösen Blutungen	Seite 1
Vorgang der Haemostase nach dem heutigen Stand der Forschungen	3
Die einzelnen Faktoren, welche bei der Blutstillung wirksam werden	4
Tierexperimente unter Anwendung verschiedener Kolloide	11
Mäuseschwanztest - Arbeitsweise und Material	12
Tabellen, Kurven	13
Mittelwerte Statistische Beurteilung der Ergebnisse	16
Weitere Versuche zur Klärung der Wirkungsweise von Makrodex und der im Organismus auftretenden Gegenregulationen	17
Zusammenfassung der Versuchsergebnisse	19
Theoretische Grundlagen der Wirkungsweise der Kolloide	2o
Literaturverzeichnis	24

Lokale Blutstillung durch Kolloide, insbesondere durch Makrodex.

Es ist eine immer wieder anerkannte Tatsache, daß der modernen chirurgischen Therapie überraschende Fortschritte gelungen sind. Dies war nicht nur möglich durch die ständige Verbesserung der Operationstechnik, sondern auch durch den Ausbau der Asepsis und Antisepsis, durch die Erfolge in der Röntgenologie und durch die Anwendung neuer Narkosemethoden. Man erstrebte auch eine optimale Blutstillung, um das Operationstrauma auf ein Mindestmaß zu beschränken.

Die Reduzierung des Blutverlustes bei Operationen und Verletzungen war von jeher ein wichtiges medizinisches Problem. Man erkannte aber, abgesehen von den haemodynamischen Folgen eines Blutverlustes, welchen Einfluß ein plötzlich auftretender Eiweißmangel auf den Gesamtorganismus hat und wie sehr er ein Krankheitsbild nach Unfällen oder Operationen komplizieren kann. Damit gewann die Forderung nach einer wirksamen künstlichen Haemostase entscheidende Bedeutung.

Es steht hier nicht die Blutung der großen Gefäße zur Debatte, die nach wie vor durch Ligaturen beherrscht werden muß. Vielmehr geht es um Blutungen aus kleinen und kleinsten Gefäßen, um parenchymatöse Blutungen, die durch mechanische Methoden schwer zu stillen sind und die gelegentlich auch lebensbedrohliche Ausmaße annehmen können. Sehr unangenehm macht sich das bemerkbar zum Beispiel bei der extrapleuralen Pneumolyse, bei der es bei etwa 25% der Operierten zu einer kapillären Nachblutung kommt (13).

Zunächst standen nur empirisch gefundene Mittel für die künstliche Haemostase zur Verfügung. Neuerdings wurden auf diesem Gebiete umfassende theoretische Erkenntnisse gewonnen, an deren Verwertung in der Praxis ständig gearbeitet wird.

Die neuen Einblicke in die Physiologie der Haemostase, ihre einzelnen Faktoren und deren Funktion im Gesamtablauf, gestatten es, den natürlichen Vorgang der Blutstillung auf seinen verschiedenen Stufen therapeutisch zu beeinflussen. Es eröffnen sich damit neue Möglichkeiten für die Chirurgie, ebenso wie für die innere Medizin bei der Behandlung von Blutkrankheiten und haemorrhagischen Diathesen verschiedener Ätiologie.

Zunächst soll der Vorgang der Haemostase beschrieben werden, so wie er sich nach dem heutigen Stand der Forschung darbietet. Es soll dabei auf Einzelfaktoren eingegangen werden, besonders auf solche, von denen Störungen der Blutstillung verursacht werden können, welche therapeutisch mit Kolloiden beeinflußbar sind.

Das von Morawitz 1905 aufgestellte, sog. klassische Gerinnungsschema, war in zwei Phasen mit vier Faktoren in folgender Weise formuliert:

I. Prothrombin + Ca + Thrombokinase = Thrombin.
II. Fibrinogen + Thrombin = Fibrin. (11)

Man wird gut daran tun, dieses Schema gewissermaßen als Gerüst beizubehalten, auch im Hinblick auf neue Forschungsergebnisse, die das Gebiet der Blutgerinnung immer unübersichtlicher machen. In diesem Sinne sagte Wöhlisch (15) auf dem Haematologentag in Wiesbaden am 24. - 26.4.1952, daß man zu älteren Ansichten zurückkehre. Er charakterisierte den Vorgang der Blutgerinnung als ein Fermentgeschehen, das in zwei Phasen verläuft, wobei in der ersten Thrombin gebildet wird und in der zweiten Fibrin entsteht über Fibrinogen.

Das klassische Gerinnungsschema mußte inzwischen in verschiedenen Punkten ergänzt werden. Es wurden der Faktor V und Faktor VI gefunden, welche beide in der I.Phase der Gerinnung wirksam werden. Außerdem treten im Laufe des Vorganges verschiedenen Hilfsmechanismen auf, die die Blutgerinnung fördern und solche, die in hemmender Weise

in das Gerinnungsgeschehen eingreifen zum Schutze des Organismus vor fortschreitender Gerinnungsthrombose. Selbstverständlich hat man sich unter der Physiologie der Haemostase nicht nur chemische Reaktionen vorzustellen, die "Gerinnung" im engeren Sinn, sondern gleichzeitig auch physikalische, die Thrombocytenagglutination und die Retraktion des Blutkuchens, wobei die Thrombagglutination einleitend, die Retraktion abschließend bei der Blutstillung stattfindet. Funio (3) schreibt für beide Vorgänge den Thrombocyten eine auslösende Rolle zu und spricht von einer "gerinnungseinleitenden" und einer "retraktionsauslösenden" Funktion der Thrombocyten. Er bezeichnet als dritte Phase der Blutgerinnung die Retraktion und Serumauspressung des Fibrins durch die Reaktion eines "Retraktozym" aus den Thrombocyten mit Fibrin. Neuro - vaskuläre Hilfsvorrichtungen unterstützen die Blutstillung, besonders nach Verletzung größerer Arterien.

Unter Berücksichtigung dieser neuen Erkenntnisse läßt sich über die einzelnen Gerinnungsfaktoren und ihre Funktion in den verschiedenen Phasen folgendes sagen:

Wie Morawitz bereits feststellen konnte (zit.nach 11), wird die Gerinnung durch T h r o m b o k i n a s e eingeleitet, welche aus zerfallenden Thrombocyten frei wird. Übereinstimmend damit weisen neuere klinische Statistiken nach, daß Thrombosen nach Operationen und Geburten in auffallender Weise mit dem Anstieg der Plättchenzahl parallel gehen (1o). Für den Zerfall der Blutplättchen müssen neben chemischen Voraussetzungen - Anwesenheit von ionisiertem Ca (s.später) - auch physikalische Ursachen vorhanden sein. An der verletzten Gefäßwand oder an nicht paraffiniertem Glas treten elektrostatische Veränderungen auf, die eine entsprechende Ladungsänderung in der benetzenden Flüssigkeit inducieren (11). Weiner und Ma. (zit nach 1o) konnten klinisch eine Steigerung der Plättchenadhäsion bei Thrombosen nachweisen. Verlängerung der Gerinnungszeit geht mit verminderter Plättchen-

adhäsion einher. - Best, Campbel und Maclean (zit.nach 1o) konnten durch Zwischenschalten eines Glasrohres zwischen Arterien und Venen verschiedener Versuchstiere die Bildung von Thromben photografisch festhalten. Sie beobachteten, daß der Vorgang von einer Plättchenablagerung eingeleitet wird und machten dafür ein "adhaesive agent" verantwortlich. - Hummel und Halse (6) wiesen nach, daß die Thrombocytenverschmelzung auch im ungerinnbaren System vor sich geht, daß die thrombagglutinierende Wirkung der Thrombokinase also unabhängig ist von ihrer spezifischen Gerinnungsfunktion. Sie stellen in diesem Zusammenhang fest, daß die Thrombagglutination der erste Schritt zur Blutstillung sei.- Interessant ist die phylogenetische Analogie: bei niederen Tieren genügt ein Verschluß durch amöboide Wanderzellen ohne Beteiligung von Gerinnungsvorgängen; erst später kommt die Abscheidung von Faserstoff, d.h. ein Gerinnungsgeschehen dazu, wenn der stärkere Druck bei höheren Tieren größere und stärker haftende Verschlußpfröpfe erfordert (Loeb, Stegmann, zit.nach 12).

Die Thrombokinase ist nach ihren chemischen Eigenschaften ein Lipoprotein (1o), welches nicht nur in den Blutplättchen, sondern auch im Plasma und in allen Geweben festgestellt werden konnte. Man fand aber, daß die einzelnen Stoffe verschiedene Eigenschaften besitzen, daß sie sich beispielsweise durch Frieren bei Gegenwart von Äther in mehrere Fraktionen zerlegen lassen (1o). Es handelt sich demnach um einen uneinheitlichen Thrombokinasekomplex. Feissly (zit.nach 11) stellte einem thermostabilen Phosphatidplättchenextrakt ein thermolabiles Proteolipoidplasmaextrakt gegenüber. Die Plasmathrombokinase wird bei den einzelnen Autoren unter verschiedenen Bezeichnungen geführt. Z.B. sprechen Lotzner und Mitarbeiter und vor ihnen schon Mellanby von einer inaktiven Thrombokinasevorstufe im Plasma; Brinkhous nennt den Plasmafaktor "Thrombocytolysin" und Quick beschreibt ein "Thromboplastinogen", das er als Vorstufe der Thrombo-

kinase ansah, welche durch den Plättchenfaktor aktiviert wird (zit.nach 11).- Schmid legt in seinem Buch über die "Blutgerinnung in Theorie und Praxis" (1o) die Zusammenhänge so dar: eine inaktive Form der Plasmakinase kommt als Prothrombokinase im zirkulierenden Blut vor. Die Aktivierung der Prothrombokinase zu Plasmakinase erfolgt durch ein Ferment, welches Lenggenhager Thrombokatalysin nennt und das nach Quick aus den Thrombocyten stammt. Dem Thrombokatalysin soll eine proteolytische Wirkung zukommen, nicht aber der Thrombokinase selbst.
Wenn ein Plättchenfaktor nötig ist, um die Plasmathrombokinase zu aktivieren, dann ist es nicht ohne weiteres verständlich, weshalb auch in Plasmapräparaten, von denen ja die Blutzellen abzentrifugiert wurden, eine Gerinnung stattfinden kann. Man müßte evtl. eine Verunreinigung durch Thrombokatalysin annehmen, was bei der Empfindlichkeit der Blutplättchen wohl schwer auszuschließen ist.
Die Thrombokinase greift in die erste Phase der Blutgerinnung ein, indem sie bei Gegenwart von Ca - Ionen die Prothrombinaktivierung katalysiert. Diese Ansicht wird von mehreren Autoren bestritten, die auf eine stoechiometrische Reaktion zwischen Thrombokinase, Calcium und Prothrombin schließen. Von diesen letzten Untersuchern wurde jedoch der für die Prothrombinumwandlung nötige Faktor V nicht berücksichtigt. Einen weiteren Hinweis auf die Enzymnatur der Thrombokinase im Gerinnungsvorgang kann auch die später zu besprechende Wirkungsweise der Kolloide geben, welche nur die thrombagglutinierende Funktion der Thrombokinase fördern, durch die ein vermehrter Einfluß auf die Gerinnung des Blutes jedoch nicht erreicht wird.
C a l c i u m ist in der ersten Phase der Blutgerinnung für die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin durch Thrombokinase nötig und zwar in ionisierter Form. Wird es ausgeschlatet, z.B. durch Natriumoxalat oder Natriumcitrat, so bleibt die Gerinnung des Blutes aus. Die Reaktion folgt dem Massenwirkungsgesetz. Ein Einfluß des

Ca auf den Zerfall der Plättchen und die Umwandlung der Plasmathrombokinase in Plasmakinase wurde diskutiert, konnte aber nicht nachgewiesen werden. Über weitere Funktionen des Ca divergieren die Meinungen, auch soweit sie die zweite Phase der Blutgerinnung betreffen. Im Interesse der besseren Übersicht und weil sie die in dieser Arbeit gegebene Fragestellung nicht direkt berühren, sollen sie hier übergangen werden.

P r o t h r o m b i n ist ein Bestandteil des zirkulierenden Blutes und zwar seiner Globulinfraktion (Molek. Gew.15o ooo). Nach Vitamin - K - Gabe ist es im Blut vermehrt; durch Dicumarolverabreichung wird der Prothrombinspiegel des Blutes gesenkt; da dies erst nach einer Latenzzeit von 24 - 48 Stunden festzustellen ist, wird eine Beeinträchtigung der Prothrombinbildung durch Dicumarol angenommen (11). Auf den Prothrombingehalt des Blutes wird aus der Dauer der Prothrombinzeit geschlossen. Es wurde dazu eine "einzeitige Methode" von Quick ausgearbeitet und eine "zweizeitige Methode" zuerst von Warner, Brinkhous und Smith angegeben (11). Die Methoden führten jedoch zu unterschiedlichen Ergebnissen, welche erst durch den Nachweis von Faktor V und Faktor VI erklärt werden konnten.

F a k t o r V und VI werden bei Schmid (1o) als Prothrombinaktivator bezeichnet, da die einzelnen Untersucher verschiedene Namen dafür prägten und noch keine einheitliche Nomenklatur geschaffen wurde. Quick's "labile factor", Owren's "Faktor V" und das von Ware, Guest und Seegers beschriebene "accelerator Globulin" sind nach Annahme von Fantl und Nance (zit.nach 1o) identisch. Von anderen Untersuchern werden Gerinnungsfaktoren angegeben, denen ebenfalls eine Aktivierung von Prothrombin zukommt, deren Identität mit den vorgenannten Stoffen jedoch abgelehnt wird. Bei der Labilität dieser Stoffe un d den ungleichen Laboratoriumsmethoden ist es aber nicht ausgeschlossen, daß es sich dennoch um ein- und denselben Gerinnungsfaktor handelt. Nach Owren (zit.nach 1o) wird Faktor V im Laufe der Pro-

thrombinumwandlung dadurch verbraucht, daß er durch Thrombokinase und Ca - Ionen bei Gegenwart von Prothrombin in Faktor VI umgewandelt wird, "der sich dann autokatalytisch ohne weitere Hilfe der Thrombokinase vermehrt und eigentlich erst die Prothrombinumwandlung bewirkt". Faktor V ist demnach das inaktive Proenzym des Faktor VI. Die Notwendigkeit von Ca - Ionen für die Bildung des Faktor VI ist nachgewiesen.

T h r o m b i n ist im strömenden Blut nicht vorhanden. Es entsteht während der Gerinnung, als Reaktionsprodukt ihrer ersten Phase. Es ist ein albuminähnlicher Körper mit dem Molekulargewicht 75 ooo. Thrombin katalysiert die Spontandenaturierung des Fibrinogen, welche durch hydrolytische Spaltungsvorgänge erfolgt. Wöhlisch (zit.nach 1o) nennt es deshalb Fibrinogen - Denaturase.

F i b r i n o g e n ist ein Plasmaprotein und gehört mit einem Molekulargewicht von 441 ooo zu den Globulinen. Wie Untersuchungen von Wöhlisch und Mitarbeitern (zit.nach 1o) zeigen konnten, besteht es schon im nativen Zustand aus fadenförmigen Molekülen.

P r o f i b r i n entsteht im Laufe der Gerinnung als Vorstufe des Fibrin, ist aber nach Wöhlisch nicht identisch mit gelöstem Fibrin, wie es einige Autoren zunächst angenommen hatten. Eine Wirkung des Profibrin als Agglutinin konnte von Hummel und Halse nachgewiesen werden (7).

F i b r i n entsteht durch Thrombineinwirkung auf Fibrinogen. Das Fibringerinnsel baut sich aus fadenförmigen Molekülen auf, die zu gebündelten Micellen zusammengelagert sind. In diesem Zusammenhang interessiert die Beteiligung des Fibrin an der Blutstillung, die auf der agglutinationsfördernden Wirkung auf die Blutplättchen und andere Blutzellen zurückgeführt wird. Fibrinschwamm kann außerdem zwischen den Fibrinfäden ein relativ großes Blutvolumen binden; daneben wirkt an der Fibrinoberfläche adsorptiv gebundenes Thrombin auf das Fibrinogen aus der Wunde ein und führt zu seiner Gerinnung. (1o).

Zu den Gerinnungshemmern gehört die Antithrombokinase, welche sowohl aus Blutplättchen als auch aus Plasma isoliert werden konnte. Sie ist als Verunreinigung in jedem Thrombokinasepräparat enthalten. Ob auch die im Serum vorhandene Heparin - Eiweiß-Verbindung eine direkte Antithrombokinasewirkung besitzt, konnte bisher weder eindeutig bewiesen noch endgültig ausgeschlossen werden. Sie greift jedoch nachweislich als Antiprothrombin in die Gerinnung ein. Nicht identisch ist Heparin mit dem von Collingwood und MacMahon im Blut und von Howell und Hess (zit. nach 1o) im Plasma gefundenen Antithrombin. Durch diese Substanz wird Thrombin in Metathrombin übergeführt. Dies geschieht erst nach Ablauf der Gerinnung, wenn Fibrinogen, zu welchem Thrombin eine größere Affinität besitzt, nicht mehr vorhanden ist. Es handelt sich also nicht um ein Antikoagulans, da Antithrombin erst nach erfolgter Gerinnung wirksam wird. Dem Eintritt der Gerinnung entgegen, antikoagulierend, wirkt eine Heparin- Plasmaeiweiß - Verbindung, die als Thrombininhibitor von Astrup und Darling erklärend bezeichnet wird. Die Albuminkomponente nennen die beiden Autoren Thrombin - Coinhibitor (zit.nach 1o). Sie ist von der Eiweißkomponenten des Antithrombin - ebenso wie der Wirkstoff selbst von Heparin - verschieden. Thrombin kann also durch zwei unabhängige Reaktionen inaktiviert werden. Chargaff und Olson (2) bezeichnen Heparin als das wirksamste Antikoagulans. Das Heparinmolekül gehört mit einem Schwefelsäuregehalt bis zu 45 % zu den stärkst ionisierbaren Verbindungen unseres Körpers. Man nimmt an, daß es die elektrische Ladung von Prothrombin und Thrombin verändert und so ihre Aktivität beeinflußt (1o). Heparin hemmt außerdem die Agglutination der Thrombocyten (Ollgard, zit.nach 1o) und vergrößert nach Zucker die Resistenz der Thrombocyten gegen die Lysis. Die bei Schockzuständen vermehrte Heparin - Ausschüttung ist nach Schmid(1o) ein Schutzmechanismus, der die Thrombosierung des Blutes, das während des Schocks in den Abdominalgefäßen stagniert,

verhindern soll. Es sind Untersuchungen im Gange, die die Beeinflussung der Energielage und der Immunisierungsvorgänge des Körpers durch Heparin klären sollen. Die fibrinolytischen Eigenschaften des Heparin konnten Halse und Bauer durch Anwendung von Isotopen und mit Hilfe des Phlebogrammes beobachten (zit.nach 1o). Heparin ist fällbar durch Bariumchlorid, $Ba(OH)_2$, Eisessig, Chinin, Benzin, Benzidin, sowie durch Protamin (Chargaff und Olson zit.nach 1o).

In wieweit das oben erwähnte Retraktozym aus den Thrombocyten bei der Retraktion des Blutkuchens auftritt, ist noch nicht klar erwiesen. Einige Untersucher glaubten den Einfluß der Thrombocyten auf die Synaerese ausschließen zu können; andere sprechen in Bezug auf die Retraktilität des Blutkuchens von einer "vitalen Eigenschaft" der Thrombocyten. Klinische Erfahrungen bei Thrombopenie und Thrombasthenie sprechen für die Beteiligung der Thrombocyten bei diesem Geschehen. (1o). Im Verlaufe der Retraktion kommt es zu hyaliner Umwandlung und Verfestigung des Agglutinates.

Die Fibrinolyse kann als Fortsetzung der Gerinnung angesehen werden. Durch Fibrinokinase werden die bei den einzelnen Proteinen verschieden starken Hemmkörper inaktiviert, damit die Fibrinolysinwirkung einsetzen kann. Das inaktive Profibrinolysin wird durch verschiedene Agentien in Fibrinolysin umgewandelt. Ein Antifibrinolysin wirkt dem Fibrinolysin entgegen (1o).

Aus dem Zusammenwirken all dieser gerinnungsfördernden und - hemmenden Substanzen resultiert die "Gerinnungstendenz" des Blutes, wie E. Göttinger (5) die letzten Endes auf das Fibrinogen wirkende Größe nennt.

Wird an einer Stelle der Blutbahn die Continuität eines Gefäßes durchtrennt, sodaß Blut ausfließt, so bildet sich physiologischerweise ein Plättchenagglutinat an den Gefäßrändern. Im weiteren Fortschreiten entwickelt sich ein intra- und perivasaler Pfropf, der durch sekundäre Veränderungen, Retraktion und Hyalinisierung, einen festhaftenden Verschlußthrombus abgibt (Apitz, zit.nach 6). Damit ist die Blutung zum Stehen gebracht.

Es gilt nun, exakte tierexperimentelle Unterlagen zu liefern, wie dieser Vorgang therapeutisch zu unterstützen und zu beschleunigen ist. Hummel und Halse (6,7) konnten experimentell erweisen, daß die Möglichkeit besteht, auf den Blutstillungsmechanismus einzuwirken mit kolloidalchemisch aktiven Stoffen und zwar, wie sie es darlegten, über die Thrombagglutination. Sie zeigten dies im Mäuseschwanztest mit verschiedenen Kolloiden. Bei ihren Versuchen verwendeten sie: Polyacrylsaures Na, Gelatine, Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Gummi arabicum, Dextran, Tylose KM 25, Oxycellulose DB 96, Pektin (Hämostasin).

In den nachstehend beschriebenen Versuchsreihen wurden neben physiologischer Kochsalzlösung Periston und Makrodex lokal verabreicht. Die wichtigsten pharmakologischen Daten seien kurz angeführt. P e r i s t o n [1] enthält eine 3,5 %ige Lösung von Polyvinylpyrrolidon; sie ist versetzt mit o,55 % NaCl, o,o42 % KCl, o,o25 % $CaCl_2$, o,ooo5 % $MgCl_2$, o,oo24 % $NaHCO_3$ und ca. 1o Vol. % freier CO_2, wodurch die sonst neutrale Lösung schwach sauer wird (pH = 6,o). Die Molekulargröße beträgt 5o ooo bei einer Streuung von 1o ooo bis 8o ooo. Polyvinylpyrrolidon hat ein großes Wasserbindungsvermögen und wirkt außerdem gefäßabdichtend.

M a k r o d e x [2] ist ein polymolekulares Gemisch partiell hydrolysierten, sorgfältig gereinigten und dialysierten Dextrans, bei dem die Molekulargewichte zwischen 2o ooo und 2oo ooo liegen. Es besteht aus Glykoseresten, die durch Glykosidbindungen, besonders an den Kohlestoffatomen 1 und 6, zu Makromolekülen vereinigt sind (9). Laurell (zit.nach 1) fand, daß "Dextran eine fibrinoplastische Substanz ist, welche die Reaktion zwischen Fibrinogen und Fibrin sensibilisiert" und daß "die fibrinoplastische Wirkung mit dem Molekulargewicht schwankt und eine optimale Wirkung erreicht wird, wenn das mittlere Molekulargewicht 75 ooo beträgt.

---

1) Bayer, Leverkusen
2) Knoll A.-G., Ludwigshafen am Rhein

M ä u s e s c h w a n z t e s t.

Arbeitsweise (in Anlehnung an die Methode von R.Jürgens und A. Studer, zit.nach 6): Mittelgroße Mäuse werden jeweils einzeln in eine Holzkapsel von entsprechender Größe gebracht, aus welcher der Schwanz frei heraushängt. Nach anfänglichen Versuchen einer leichten Narkose mit Narketisan i.m. wurde von einer Narkotisierung abgesehen, da sich die Tiere als sehr empfindlich dagegen zeigten und keine Abweichungen der Blutungszeiten im nicht-narkotisierten Zustand festzustellen waren.- Eine Metallplatte mit kreisrunder Öffnung von 2 mm Durchmesser und mittels einer Hebelvorrichtung zu bewegendem Skalpell dient zum Abschneiden bei gleicher Schwanzstärke. Die verwendeten Lösungen werden auf 38 - 4o Grad erhitzt; dies geschieht im Wasserbad, aus welchem sie jeweils gleichzeitig mit dem Abschneiden des Schwanzstückes genommen werden, um den Schwanzstumpf in sie einzutauchen. Im selben Augenblick wird mit Hilfe einer Stoppuhr der Beginn der Blutung festgelegt und diese vor einem weißen Hintergrund beobachtet bis zu ihrem restlosen Versiegen, welcher Zeitpunkt als Ende der Blutung auf der Stoppuhr abgelesen wird.

Material: Als haemostyptische Lösungen wurden physiologische Kochsalzlösung verwendet, Periston und Makrodex zusammen mit Protaminsulfat und zwar 1o ccm 1%iges Protaminsulfat auf 5oo ccm Makrodex. Sie wurden je an einer Gruppe von ca 2o Tieren getestet. Daneben wurde die Blutungszeit bei 5 Kontrollen ermittelt, bei denen der Schwanzstumpf während der Dauer der Blutung in keiner Weise behandelt wurde.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Abbildungen und Tabellen dargelegt.

Nr.	Min.	Sek.
1	11	3o
2	9	2o
3	7	2o
4	3	3o
5	11	oo
6	21	oo
7	6	3o
8	2o	3o
9	11	3o
1o	7	3o
11	12	15
12	8	45
13	1o	3o
14	5	15
15	11	oo
16	4	45
17	5	45
18	12	3o
19	9	15
2o	15	45
21	7	3o
22	11	45
23	1o	45
Σ =	235	25

Tab. 1

Nr.	Min.	Sek.
1	4	45
2	13	15
3	12	oo
4	11	oo
5	12	3o
6	8	3o
7	7	3o
8	12	3o
9	9	45
1o	8	3o
11	6	3o
12	9	oo
13	9	3o
14	9	15
15	1o	oo
16	3	15
17	7	1o
18	6	2o
Σ =	161	15

Tab. 2

Nr.	Min.	Sek.
1	5	oo
2	8	15
3	2	oo
4	14	15
5	1o	3o
6	1	oo
7	2	15
8	o	45
9	2	15
1o	2	3o
11	7	45
12	12	45
13	5	3o
14	2	oo
15	14	3o
16	1	45
17	1	oo
18	5	3o
19	12	3o
2o	4	15
Σ =	116	15

Tab. 3

Nr.	Min.	Sek.
1	27	oo
2	19	oo
3	25	3o
4	18	45
5	17	15
Σ =	1o7	3o

Tab. 4

Tab. 1 - 4:

Gemessene Blutungszeiten

1 : für NaCl,

2 : für Periston,

3 : für Makrodex/Protaminsulfat 5oo:1o

4 : im Leerversuch

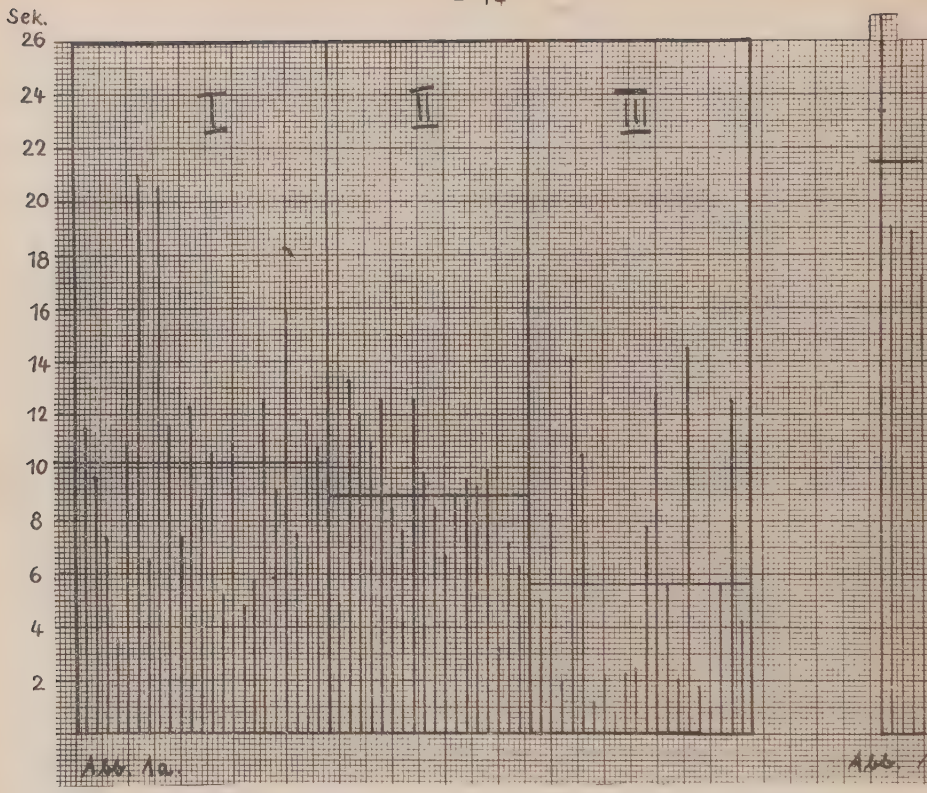

Abb. 1a.

Abb. 1 a. Mäuseschwanztest. Jede Säule gibt die Blutungszeit eines Tieres in Sekunden an, die Horizontale den jeweiligen Mittelwert einer Versuchsreihe. I. Versuchsreihe mit NaCl, II. mit Periston, III. mit Makrodex/Protaminsulfat.

Abb. 1 b. Leerversuch.

In Abb. 1 und Tab. 1, 2 und 3 sind nacheinander die Versuchsreihen mit physiologischer Kochsalzlösung, Periston und Makrodex/Protaminsulfat (1o ccm 1% Protaminsulfat auf 5oo ccm Makrodex) dargestellt. Sie zeigt die gemessenen Blutungszeiten der einzelnen Tiere in der Höhe der Columnen und die errechneten Mittelwerte in der Horizontalen. Das gleiche wird in Abb. 1 b und Tab. 4 für die Kontrolltiere veranschaulicht. Man ersieht aus den Abbildungen die Senkung der Blutungszeit durch Periston und vor allem durch Makrodex. Bei letzterem sind bei der Hälfte der Tiere extrem niedrige Blutungszeiten verzeichnet, doch überragt ein Viertel der gemessenen Werte die mittlere Blutungszeit nicht unbedeutend, was diesen Mittelwert natürlich stark beeinflußt hat.

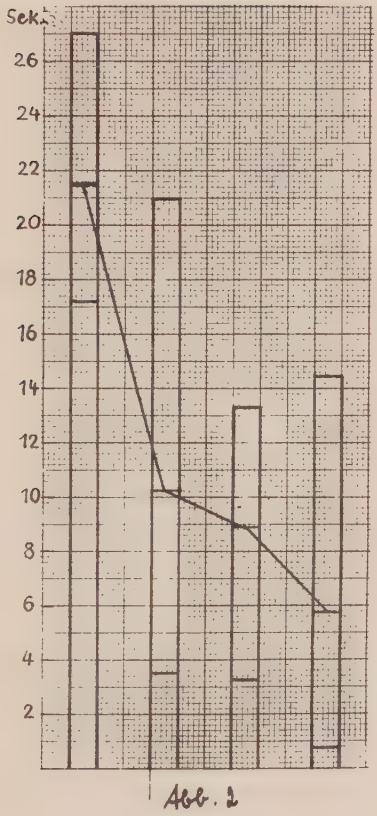

Abb. 2. Mittelwerte.
Die Höhe der Säulen bezeichnet jeweils die längste der Blutungszeiten, die kürzeste Blutungszeit ist durch Querstrich angedeutet. Die Kurve verbindet die Punkte der Mittelwerte.

Abb. 2 bringt die Relation der Mittelwerte und die Streuung, d.h.die in jeder Versuchsreihe gemessene längste Blutungsdauer in der Höhe der Säulen und die kürzeste in der angebrachten Querteilung. Die Punkte der mittleren Blutungszeiten sind durch eine Linie miteinander verbunden.

Aus der nachfolgenden Tabelle 5 sind die Mittelwerte in Minuten ersichtlich, ebenso die mittlere Streuung und dazu die prozentuale Verkürzung der Blutungszeiten durch die einzelnen Medikamente.

M i t t e l w e r t e:

	Min.	mittlere Streuung	Verkürzung
Leer	21,5	3,6o	--
NaCl	1o,23	3,23	52,5 %
Periston	8,96	2,13	58,4 %
Makrodex/Protaminsulfat	5,81	3,98	73,o %

Tab. 5: Blutungszeiten für NaCl, Periston, Makrodex/Protaminsulfat und im Leerversuch. Mittelwerte und mittlere Streuung in Minuten; prozentuale Verkürzung.

Wie aus den Abbildungen und aus der tabellarischen Übersicht hervorgeht, ergaben sich folgende Mittelwerte der Blutungszeiten: für NaCl 1o,23 Minuten
für Periston 8,96 Minuten
für Makrodex/Protaminsulfat 5,81 Minuten.
Die Blutungszeit konnte gegenüber dem Leerversuch maximal mit Makrodex/Protaminsulfat um 73 % gesenkt werden.

Für die statistische Urteilsbildung ist wichtig, daß sich beim Vergleich der Ergebnisse mit NaCl und Makrodex/Protaminsulfat trotz der relativ großen Streuung eine "signifikante Differenz" ergibt, wenn man laut Gebelein und Heite (4) den Quotienten (Q) bildet zwischen der Differenz der Mittelwerte (d) und der Quadratwurzel aus der Summe der Quotienten zwischen den Quadraten der Streuung (σ) und der gekreuzten Anzahl (n) der Versuchstiere. $Q = \frac{d_N - d_M}{\sqrt{\frac{\sigma_N^2}{n_N} + \frac{\sigma_M^2}{n_M}}}$
Man erhält den Wert für Q = 4,o9, während die Zufallsgrenze bei 3,23 liegt (nach $Q = 3 + \frac{10}{n_N + n_M}$). Daß dieser Quotient für den Vergleich der Blutungszeiten mit Periston und Makrodex mit Q = 3 errechnet wird, während hier die Zufallsgrenze erst bei 3,26 liegt, der Unterschied daher nicht als statistisch gesichert bezeichnet werden kann, findet seine Begründung in der erheblichen Streuung und der geringen Anzahl der Versuchstiere.
Eine Fehlermöglichkeit besteht bei der Versuchsanordnung darin, daß die Lösungen während der Dauer der Blutung nicht auf der gemeinsamen Anfangstemperatur gehalten wurden. So

konnten Ungleichheiten auftreten je nach Außentemperatur und Blutungsdauer. Außerdem konnten die Meßpunkte für die einzelnen Kolloide nicht an ein- und derselben Gruppe von Mäusen bestimmt werden, so daß individuelle Unterschiede (z.B. der Blutbeschaffenheit) eine gewisse Rolle spielen könnten. Auch ist eine Fehlerbeurteilung anhand von Doppel- und Mehrfachbestimmungen nicht möglich. Jedoch darf bei großer Variationsstreuung die Fehlerstreuung vernachlässigt werden.

Nach der gleichen Methode wurden die Blutungszeiten bestimmt für Makrodex ohne Zusatz von Protaminsulfat und für Makrodex mit einem Zusatz von nur 5 ccm Protaminsulfat auf 5oo ccm Makrodex. Die gefundenen Werte zeigen Tab. 6 und 7 und Abb. 3 a und b

Nr.	Min.	Sek.
1	3o	3o
2	47	oo
3	1	3o
4	2	oo
5	3	3o
6	1	15
7	6	15
8	31	oo
9	2	oo
1o	2o	oo
11	43	oo
12	46	oo

Tab. 6

Nr.	Min.	Sek.
1	3	4o
2	4	oo
3	4	3o
4	45	oo
5	11	3o
6	3	15

Tab. 7

Tab. 6: Blutungszeiten mit Makrodex
Tab. 7: Blutungszeiten mit Makrodex/Protaminsulfat 5oo:5 ccm.

Es erweist sich bei beiden Lösungen, daß neben deutlich verkürzten Blutungszeiten solche von stark überhöhter Dauer auftreten. Diese Spitzen waren auch in der Versuchsreihe mit Makrodex/Protaminsulfat im Verhältnis 5oo:1o ccm zu erkennen. Obwohl sie dort im Vergleich mit den Blutungszeiten der Kontrolltiere stark gesenkt waren, treten sie neben den übrigen, extrem kurzen Blutungszeiten dieser Versuchsreihe noch deutlich hervor. Aus dem Ansprechen auf Protaminsulfat muß auf eine Heparinwirkung geschlossen werden. Dies deckt sich mit der klinischen Erfahrung von

H.J. Viereck und V. Köhler bei Pneumolysen (13). Die genannten Autoren führen Nachblutungen in die Pneumolysenhöhle auf eine Störung des Heparin - ACTH - Gleichgewichts durch überschießende Produktion von Heparin zurück. Die Abhängigkeit und Beeinflussung dieser beiden Substanzen konnten Weissbecker und Hitzelberger mit ihren klinischen Versuchen nachweisen (14).

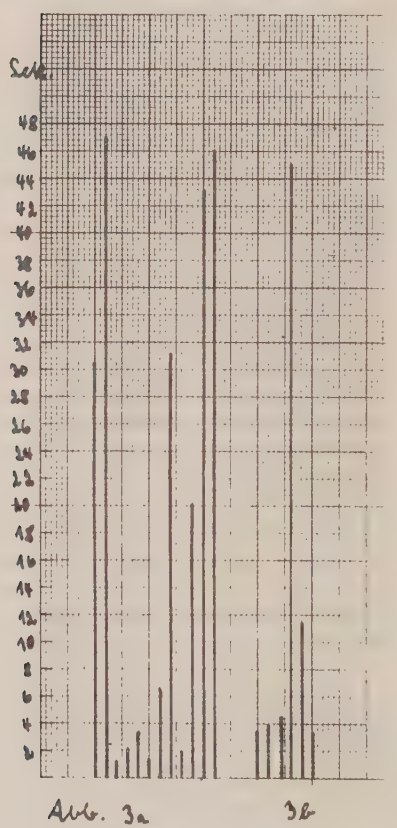

Abb. 3a

Abb. 3 a: Blutungszeiten gegen Makrodex ohne Zusatz von Protaminsulfat. Jede Säule zeigt die Blutungszeit einer Maus an.

Abb. 3 b: Blutungszeiten gegen Makrodex mit 5 ccm 1 % ig. Protaminsulfat auf 5oo ccm Makrodex.

Zusammenfassung:

Faßt man die Ergebnisse der Versuche zusammen, so kann man zunächst sagen, daß beide zur Anwendung gebrachten Kolloide die Blutungszeit deutlich verkürzen.
Mit Periston konnte die Blutungszeit gegenüber dem Leerversuch um 58,4 % vermindert werden, mit Makrodex/Protaminsulfat (5oo:1o ccm) sogar um 73,o %. Betrachtet man die Einzelergebnisse, so fallen die äußerst kurzen Blutungszeiten bei Makrodex/Protaminsulfat auf, die in etwa der Hälfte der Fälle erzielt wurden. Im errechneten Mittelwert kommt das deswegen verhältnismäßig wenig zum Ausdruck, weil dieser wieder in die Höhe getrieben wurde durch relativ hohe Werte, zu denen es bei 25 % der Tiere gekommen ist. Bei den Versuchen mit Makrodex ohne Zusatz von Protaminsulfat, welche als erste angestellt worden waren, sind ebenso kurze Blutungszeiten bei der Hälfte der Tiere zu verzeichnen, daneben aber traten wesentlich höhere Spitzen zutage. Ähnlich sind die Ergebnisse bei Zusatz von nur 5 ccm Protaminsulfat zu 5oo ccm Makrodex. Ob diese verlängerten Blutungszeiten in Zusammenhang zu bringen sind mit Beobachtungen von Voorhees et al. und Morrison et al. 1951 (zit.nach 1) bei Versuchen an Ratten und Mäusen mit i.v. verabreichtem Dextran, bedarf noch der weiteren Untersuchung. Diese Autoren fanden nach Dextran-Injektionen bei ihren Versuchstieren Cyanosen und Oedeme der Schnauze und der Beine, sind aber der Meinung, daß die Ergebnisse, die man bei Tieren mit solchen Reaktionen erhält, nicht auf die Wirkungsweise des Dextran beim Menschen übertragen werden können. Die sicher beobachtete Vermehrung von Heparin im Organismus bei Schockzuständen wurde einleitend bereits beschrieben. Es ist ebenso erwiesen, daß Heparin durch Protamin gefällt wird. Wie die Versuche mit Makrodex/Protaminsulfat im Verhältnis 5oo: 1o ccm ergaben, konnten hier die zu erwartenden Spitzen der Blutungszeiten auf relativ niedrige Werte gesenkt werden, die beispielsweise in der Versuchsreihe mit Periston kaum in Erscheinung getreten wären, die nur wegen der extrem kurzen Zeiten der übrigen Tiere in der Ver-

suchsreihe noch hervortreten. Demnach liegt der Schluß nahe, daß es sich hier um eine Heparin - Ausschüttung handeln muß.

Die theoretischen Grundlagen der Wirkungsweise der Kolloide als lokale Haemostyptika sollen im Folgenden näher erörtert werden.
Hummel und Halse konnten bei lokaler Verabreichung kolloidaler Lösungen mit Hilfe von Mikrophotogrammen eine verstärkte Agglutination der Thrombocyten in vitro nachweisen, wenn sie Oxalat - Citratblut 1 : 1 mit den zu untersuchenden Kolloiden zusammenbrachten. In weiteren Experimenten stellten sie Thrombokinasepräparate her, welche durch 6o Minuten langes Erhitzen auf 1oo Grad gerinnungsinaktiv gemacht wurden. Sie beobachteten damit gleiche Thrombagglutination, wie im aktiven Thrombokinasepräparat und konnten so die Gerinnung als den dominierenden Faktor bei der Blutstillung in Frage stellen (6). Übereinstimmend mit anderen Forschern (Best, Campbel, Maclean) betrachten sie die Thrombagglutination als den ersten Schritt zur Blutstillung und die Thrombokinase als natürliches Plättchenagglutinin. Daß die Kolloide erst zusammen mit Thrombokinase aus der Wunde thrombagglutinierend wirken ist daraus zu ersehen, daß i.v. zugeführte Kolloide in der Blutbahn keine Thrombagglutination verursachen. Ein Zusammenhang mit der Gerinnungsfunktion der Thrombokinase konnte durch Verwendung gerinnungsinaktiver Thrombokinasepräparate ausgeschlossen werden. Auch stellte sich in der Auswertung der Versuchsergebnisse heraus, daß der Grad der Thrombocytenagglutination dem Grad der Verkürzung der Blutungszeit durch die Kolloide entspricht. Einen positiven Einfluß auf das Gerinnungssystem konnten sie somit nicht nachweisen. Vielmehr fanden sie im Recalcifizierungsversuch eine geringe Hemmung der Blutgerinnung. Mit Hilfe dieser Erfahrungen erklären sie die Förderung der Blutstillung durch kol-

loidale Lösungen so: "Die Kolloide werden an die Plättchen gebunden und labilisieren sie, d.h. sie setzen deren Fällbarkeit (ihr kritisches Potential) herauf". Durch raschere und stärkere Plättchenverklebung wird der Verschlußthrombus am verletzten Gefäß früher gebildet, woraus die Verkürzung der Blutungszeit resultiert.

Profibrin, welches als natürliches Thrombagglutinen in diesem Zusammenhang erwähnt werden muß, wirkt nicht wie die kolloidalen Agglutinine durch Dehydratisierung, sondern durch Micellbildung und Denaturisierungsvorgänge. Es hat eine kräftige Wirkung im Sinne einer Verfestigung des gebildeten Thrombagglutinates. Hummel und Halse (7) erbrachten auch hiefür den Beweis, indem sie durch Anticoagulantien die Gerinnungszeit extrem verlängerten. In solchen Fällen waren etwa gebildete Thrombagglutinate insuffizient und die Blutungszeit war trotz der angewendeten thrombagglutinierenden Kolloide verlängert.

In jüngster Zeit konnte jedoch durch Untersuchungen von H.J. Viereck und V. Köhler erwiesen werden, daß auch bei artifiziell verzögerter Gerinnung die Kolloide eine positive Wirkung entfalten. Bei ihren Versuchen verwendeten sie Rinderoxalatplasma um damit das Anticoagulans Heparin in vitro gegen Dextran und Polyvinylpyrrolidon zu testen. Sie fanden, daß die durch das Heparin bedingte Herabsetzung der spontanen Blutstillung mit Hilfe der Kolloide, am deutlichsten mit Dextran, abgeschwächt werden konnte. Den nachgewiesenen "gerinnungsfördernden Effekt" des Makrodex und Periston führen sie auf eine Heparin - Hemmung durch die Kolloide zurück. Dieser Schluß ist mit der Anschauung, wie sie Hummel und Halse vertreten, in Einklang zu bringen, wenn man den Heparininhibitorgehalt der Thrombocyten berücksichtigt, von dem Jürgens, Basel auf dem Haematologentag 1952 sprach (zit.nach 8). Wenn die Kolloide die Fällbarkeit der Plättchen steigern, käme es dadurch zu einem

vermehrten Freiwerden des Heparininhibitors und so indirekt zu einer gesteigerten Heparinhemmung. Die haemostyptische Wirksamkeit der Kolloide beruhte somit neben der Förderung der Thrombocytenagglutination auf einer Heparinhemmung durch Auftreten des Heparininhibitors in größerem Maße.

Eine andere Frage ist, ob die Versuche mit Plasma ohne weiteres in Beziehung gesetzt werden können zu Experimenten mit Vollblut. Chargaff und Olson (2) bestimmten die Einwirkung von Heparin auf Blutgerinnungszeit und Plasmagerinnungszeit und fanden erhebliche Unterschiede, sowohl in Bezug auf die wirksamen Dosen als auch in Bezug auf die Dauer der Gerinnungsverzögerung. In Plasma erreichten gleiche Heparindosen nur etwa die Hälfte der Gerinnungszeit wie im Vollblut; auch hatten die gemessenen Werte der Plasmagerinnungszeit die Tendenz, sehr viel früher zur Norm zurückzukehren. Chargaff und Olson erklären dieses Phänomen damit, daß Heparin an die Blutzellen adsorbiert wird und in diesem Zustand seine Wirksamkeit entfaltet. Werden die Zellen vom Plasma abzentrifugiert - wobei vermutlich der Zerfall wenigstens einiger Thrombocyten nicht verhindert werden kann - so muß der anticoagulierende Effekt entsprechend vermindert werden.

Bei Untersuchungen mit Protamin und heparinisiertem Blut fanden die beiden Autoren wider Erwarten, daß eine Steigerung der Heparinwirkung durch Protamin, wie dies bei Insulin mit Protamin bekannt war, nicht möglich ist. Obwohl die Protamine einen gerinnungshemmenden Effekt in vitro haben, wird durch sie die Heparinwirkung in vivo gestoppt. Wenn der anticoagulierende Effekt auf die Reaktion der Protamine mit Thrombin zurückzuführen ist, dann muß man weiter den Schluß ziehen, daß Protamin eine größere Affinität zu Heparin hat als zu dem Enzymkomplex. Die Verbindung Heparin - Protamin muß sehr fest sein (2).

Durch die angestellten Versuchsreihen wurde im Mäuseschwanztest erwiesen, daß es in vivo nicht zu einer ausreichenden Antiheparinwirkung der Kolloide kommt, wie dies bei in-vitro-Versuchen mit Plasma der Fall ist. Wo vielmehr das Heparin - ACTH - Gleichgewicht augenscheinlich gestört ist zu Gunsten des Heparin, muß zu Makrodex noch Protaminsulfat zugefügt werden, damit das Gerinnungssystem seine Wirksamkeit entfalten kann.
Es ist demnach zu schließen, daß die Kolloide wohl im heparinisierten Plasmapräparat haemostatisch wirksam sind, daß aber die Absorption des Heparin durch die Blutzellen so stark ist, daß erst Protamin imstande ist, das Heparin herauszulösen, worauf die Verkürzung der Blutungszeit durch die Kolloide zur Auswirkung kommt.

Ich danke Herrn Priv.Dozent Dr. med. Fr. H o l l e
für die freundliche Überlassung des Themas und für die
jederzeit gewährten Anregungen.

Dem Direktor der Chirurgischen Universitätsklinik,
Herrn Professor Dr. med. W. W a c h s m u t h,
danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Literatur

) Aberg Bertil — Untersuchungen über teilweise hydrolysiertes Dextran.1o.XI.52. 17o7/1948/7.

) Chargaff E. und K.B.Olson — Chemistry of Blood Coagulation

) Funio A., Bern — Die Medizinische 1/1952.

) Gebelein H. und H.J.Heite. Statistische Urteilsbildung. Springer 1951.

) Göttinger E. — Med.Klinik 1951 S.361.

) Halse und Hummel — Arch.Chir.269.1-8/1951.

) Hummel und Halse — Klin.Wschr.S.688/1952.

) Jürgens, Basel — Med.Klin.S.85o/1952.

) Klevas Sune — Bestimmung des Dextrans im Blut bei der Anwendung als Plasmasubstitut. Särtryk ur Svensk Kemisk Tidskrift 56 ärg.,262,1944.

) Schmid Jos. — Die Blutgerinnung in Theorie und Praxis.

) Schulze E. — Klin.Wschr.195o.S.241.

) Stich — Arch.Klin.Chir.162,279.193o

) Viereck H.J. und V.Köhler

) Weißbecker L. und A.Hitzelberger. Klin.Wschr.S.288.1953.

) Wöhlisch — Med.Klin.S.82o/1952.

L e b e n s l a u f

Am 23.12.2o wurde ich als Tochter des Großkaufmanns Josef Mehler und seiner Ehefrau Frieda, geb.Meinzinger in Würzburg geboren. Von 1927 - 31 besuchte ich die Volksschule in Würzburg, anschließend 6 Jahre das Lyzeum und von 1937 - 38 die Frauenschule in Würzburg. Das Abitur legte ich 1948 in München ab, nachdem ich von 1947 - 48 die Oberrealschule dort besucht hatte. Dazwischen war ich von 1938 - 47 in der Lebensmittelgroßhandlung meines Vaters tätig. Meine medizinischen Studien nahm ich mit dem Sommer-Semester 1949 an der hiesigen Universität auf, wo ich nach 4 vorklinischen Semestern die ärztliche Vorprüfung bestand. Nach weiteren 6 klinischen Semestern legte ich im Jahre 1954 das Staatsexamen an der Universität Würzburg ab.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe. Ein mir früher zugeteiltes Thema habe ich ordnungsgemäß zurückgegeben.

Marianne Mehler

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG GLOFFSTEINSTR. 3